

令和 5 年 5 月 30 日現在

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K20680

研究課題名（和文）ミクログリアを介した活動依存的な前頭葉スパイン形態可塑性の制御

研究課題名（英文）Microglia-mediated gating of activity-dependent spine enlargement in the medial prefrontal cortex

研究代表者

田尻 美緒 (Tajiri, Mio)

東京大学・大学院医学系研究科（医学部）・特任研究員

研究者番号：80908575

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000 円

研究成果の概要（和文）：成体マウスの大脳新皮質では、学習時に樹状突起スパインが構造的な可塑性を示す。しかし、新皮質における活動依存的なスパインの頭部増大をもたらす正確なシグナル伝達経路は不明なままである。本研究ではグルタミン酸の2光子アンケーシングによるスパイクタイミング依存的可塑性プロトコルを用いて、マウスの内側前頭葉皮質の急性スライス錐体ニューロンの単一スパインにおける可塑性のシグナル伝達経路を調査した。結果、若年成体マウスにおいてノルアドレナリンがミクログリア-cAMP経路、TNF-シグナルを介して活動依存的なスパイン増大を間接的に脱抑制している可能性を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では成体マウス前頭葉においてノルアドレナリンがミクログリアを介して活動依存的なスパイン増大を間接的に脱抑制していることを見出し、この経路が抑うつモデルでは制御されなくなる可能性を示した。前頭葉においてはノルアドレナリンがミクログリアを介した細胞間伝達により可塑性を制御しているというのは意外であり、脳の学習モデルの理解に寄与する。またこの機序が発達期依存的であるということから臨界期などの研究への展開が、ミクログリアと各種病態との関連性が指摘されていることから疾患研究への展開が考えられ、本研究の影響は大きいといえる。

研究成果の概要（英文）：Dendritic spines undergo structural plasticity during learning in the neocortex of adult mice. However, the exact signaling pathway that leads to activity-dependent spine enlargement in the neocortex remains unclear. To investigate it in single spines of pyramidal neurons in an acute slice preparation from the medial prefrontal cortex of mice, I applied a spike-timing-dependent plasticity protocol with two-photon uncaging of glutamate. My results demonstrate that noradrenaline disinhibits activity-dependent spine enlargement through a microglial-cAMP pathway and TNF- signaling pathway in young adult mice, which may play a pivotal role in learning in adults.

研究分野：医学

キーワード：スパイン形態可塑性 前頭葉 ミクログリア ノルアドレナリン

1. 研究開始当初の背景

前頭前野は高次機能の中核として様々な複雑な認知・行動に関わり、シナプス可塑性は重要な神経基盤の一つと考えられる。特にシナプス後部構造である樹状突起スパインは電気的な長期増強の基盤となるスパイン頭部増大を起こすことが海馬でわかっている(Matsuzaki et al, Nature 2004)。近年の in vivo イメージング研究により、学習に伴い実際に前頭葉において日単位でスパインが形態変化すること(Lai et al., Nature 2012)が明らかになった。しかし、前頭葉を含む新皮質において具体的にどのような信号でスパインが増大するのか不明であり、他の研究室における脳スライス研究ではスパイン増大の誘発に成功していない(Tazerart et al., Nat Com 2020)。

申請者はこれまでに 2 光子励起顕微鏡を駆使し前頭葉スパイン可塑性を制御する条件を探索してきた。幼若期のマウスでは“単一スパインに対するケイジド・グルタミン酸の 2 光子刺激と発火のペアリング”刺激によって顕著なスパイン増大を示したが、成獣期のマウスではこの刺激に応答しなかった。ところが成獣期であっても、ミクログリアの除去か、ノルアドレナリンの添加で可塑性が誘導されることがわかった。つまり、成獣期のスパイン可塑性がミクログリアにより抑制され、ノルアドレナリン上昇で脱抑制されることが学習に関連した可塑性制御機序と考えられた(図 1)。しかし、ミクログリアによる抑制の機序は不明のままである。先行研究からミクログリアの制御は液性因子または物理的な相互作用を介している可能性が考えられている。

さらにこれまでの実験結果により社会的敗北ストレスを与えると感受性マウス群では可塑性が低下することが既にわかっており、ミクログリアによる抑制機序が亢進している可能性が考えられる。

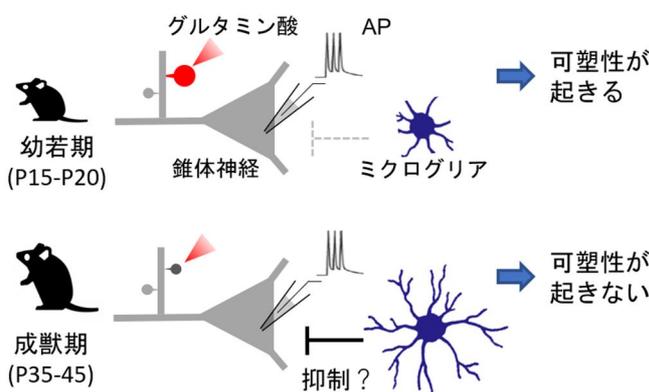


図 1 ミクログリアによる制御機序を解明

2. 研究の目的

(1) 成獣期のミクログリアが前頭葉スパインの活動依存的な形態可塑性を抑制する下流シグナル路を同定する。ミクログリアが液性因子を介して、または形態変化や物理的接触によってスパイン機能を抑制している可能性を検証する。

(2) うつ病などでみられる前頭葉機能障害のシナプス基盤を明らかにするため、社会的敗北ストレス感受性マウス群においてミクログリアによる前頭葉可塑性抑制機序が亢進している可能性を検証する。

3. 研究の方法

(1) ミクログリアによる可塑性抑制因子の探索

Allen Institute が公開している遺伝子発現データを用いてミクログリアによる可塑性抑制の候補因子を挙げる。候補因子は成獣期マウスの急性脳スライスにノルアドレナリン存在下でパフ投与し、2 光子励起顕微鏡を用いて“単一スパインに対するケイジド・グルタミン酸の 2 光子刺激と発火のペアリング”刺激(図 2)によるスパイン可塑性誘発実験を行う。

ミクログリア特異的に Cre を発現する Tmem119-Cre マウスと Cre 依存的に抑制性 Gi-DREADD を発現する R26-LSL-hM4Di マウスを導入し、ダブルトランスジェニックマウスを作成する。ミクログリアの cAMP シグナル伝達を化学遺伝学的に阻害し、スパイン可塑性誘発実験を行う。

ウイルス・ベクターを用いて Tmem119-Cre マウスに蛍光遺伝子を導入、可塑性誘発時のミクログリア形態を確認し、刺激スパインへの物理的な接触の関与があるか検討する。

(2) 社会的敗北ストレスによる可塑性抑制の機序の検証

社会的敗北ストレスをマウスに与え、行動実験により感受性群と抵抗群に分離する。ストレス感受性群ではノルアドレナリンを投与しても可塑性が出現しないが、ミクログリア特異的なホスホジエステラーゼ 3 (PDE3) の薬理的阻害によりミクログリア特異的に cAMP を上昇させることでこの可塑性低下が回復するか、スパイン可塑性誘発実験を行い検証する。

4. 研究成果

(1) ミクログリアによる可塑性抑制因子の探索

可塑性抑制の候補シグナルのひとつとして TNF- α が挙げられた。TNF- α シグナルがスパインを抑制する可能性を薬理的に検証したところ、ノルアドレナリンの添加で可塑性誘発刺激によりスパイン増大が誘発されるが、TNF- α をパフ投与した状態ではこれらのスパイン増大は抑制された。対して TNF- α を薬理的に阻害すると可塑性誘発刺激でスパイン増大が誘発された。この結果からミクログリアはノルアドレナリンの下流で TNF- α シグナルを介してスパイン増大を抑制している可能性が示された (図 2)。

ノルアドレナリンがミクログリアを介した細胞間伝達により可塑性を制御しているという仮説を強固にするために、ミクログリアの cAMP シグナル伝達を化学遺伝学的に阻害した。結果、ノルアドレナリン依存的なスパイン形態可塑性は抑制され、ノルアドレナリンはミクログリアの細胞内 cAMP シグナルを介して活動依存的なスパイン増大を間接的に脱抑制していることが示された (図 2)。

ミクログリアが形態変化や物理的接触によってスパイン機能を抑制する可能性を検証するため、可塑性誘発時のミクログリア形態イメージングを行った。STDP 刺激で刺激されたスパインにミクログリアが新たに接触することはなく、そのような効果を示唆する以前の研究とは矛盾することがわかった。

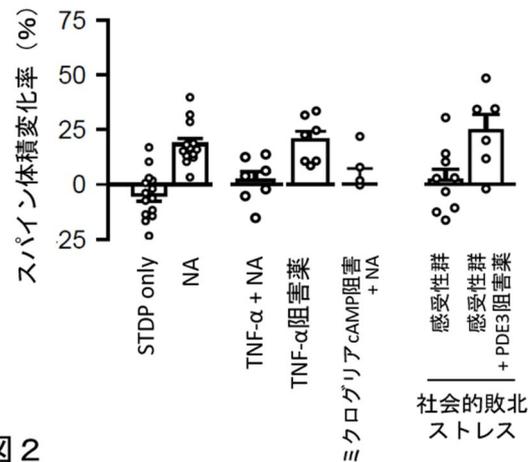
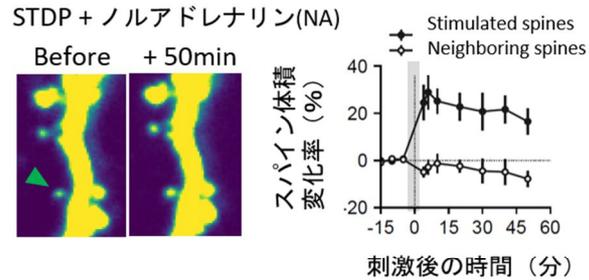
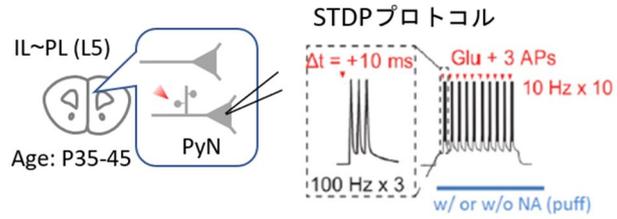


図 2

(2) 社会的敗北ストレスによる可塑性抑制の機序

抑うつモデルではミクログリアを介したシグナル路が増強し可塑性抑制の機序が亢進する可能性を検証した。マウスに社会的敗北ストレスを与えた抑うつモデルではノルアドレナリンによる可塑性が低下するが、ミクログリア特異的に cAMP を上昇させるとうつによる可塑性低下が回復することがわかった (図 2)。

以上の結果から、成体マウスにおいてノルアドレナリンがミクログリア-cAMP 経路、TNF- α を介して活動依存的なスパイン増大を間接的に脱抑制していることがわかり、この経路は抑うつモデルでは制御されなくなる可能性が示唆された。前頭葉においてはノルアドレナリンがミクログリアを介した細胞間伝達により可塑性を制御しているというのは意外であり、脳の学習モデルの理解に寄与する。またこの機序が発達期依存적であるということから臨界期などの研究への展開が、ミクログリアと各種病態との関連性が指摘されていることから疾患研究への展開が考えられ、本研究の影響は大きいといえる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------